

VU Research Portal

Integrative Systems Toxicology for Human Health

Sharma, R.P.

2018

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Sharma, R. P. (2018). *Integrative Systems Toxicology for Human Health*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Samenvatting

Samenvatting

In de meeste industrielanden worden grote hoeveelheden chemicaliën geproduceerd en los gelaten in de omgeving. Men verdenkt de ophoping van deze chemicaliën in het ecosysteem en de daardoor veroorzaakte blootstelling van mensen aan die chemicaliën, ervan negatieve effecten te hebben op de menselijk gezondheid. Wat de zogenaamde EDCs (endocrien systeem verstorende verbindingen) betreft, betreffen deze effecten de verstoring van hormoonregulatie. REACH (Registratie, Evaluatie, Autorisering en beperking van CHEmicaliën) en 3V (Vervanging, Vermindering, en Verfijning) beginselen zijn respectievelijk voorgesteld door de ECHA (Europese Chemicaliën Agentschap) en de EFSA (Europese Voedsel Veiligheid Autoriteit) om productie en gebruik van zulke chemicaliën aan banden te leggen. Beide beginselen gaan over de bescherming van de menselijke gezondheid en de omgeving door een betere en vroegere vaststelling van wat de intrinsieke eigenschappen zijn van chemische stoffen. Tegelijkertijd richten zij zich op het bieden van een alternatief voor dierproeven door in vitro en in silico methodes te ontwikkelen, door geïntegreerde beoordeling en testbenaderingen (zogenaamde IATAs) mee te nemen, enzovoort. Het tijdig opmerken van schadelijke effecten van chemicaliën gaat gepaard aan verscheidene uitdagingen. Zo geven de complexiteiten die inherent zijn aan de getroffen biologische systemen, de complexe mechanismen rond structuur, stabiliteit, en oplosbaarheid van de chemicaliën zelf, alsook de complexe reacties van organismen in verschillende levensstadia en op verschillende tijdschalen, problemen. De hoge-doorvoer analyses die opduiken, de -ooms, alsmede verschillende in silico methodes zoals PBPK (in fysiologie gefundeerde farmacokinetiek), PD (farmacodynamiek), systeembiologie, en AOPs (paden met schadelijke werking) bieden de gelegenheid meer te begrijpen van de biologische complexiteit en de meerlagige verbondenheid. Het is noodzakelijk om, tezamen met het ontwikkelen van nieuwe methodes en technieken voor toxicologisch onderzoek, bestaande gegevens te her-evalueren, te verbeteren qua opbouw en consistentie, te integreren, en dan op basis van kennis de integrale resultaten hiervan te implementeren in potentiële oplossingen van de vele problemen op dit gebied. Er heerst echter een schaarste aan onderzoek dat in vitro, in vivo en in silico modellen tot platformen integreert aan dat de resultaten van de nieuwe gegevens-gedreven benaderingen in direct verband brengt met modellen die schadelijke werkingen voorspellen.

Dit proefschrift beoogt een integratieve systeemtoxicologie methodiek te ontwikkelen die ons in staat stelt om de schadelijke effecten van chemicaliën op een biologische systeem getalsmatig te begrijpen. Deze methodiek dient zich meer te richten op het begrijpen van de mechanismen volgens welke een chemische stof ingrijpt op levende systemen, dan op de conventionele proefondervindelijke eindpunten en dierproeven. De bedoelde benadering dient alle huidige echelons, zoals chemische blootstelling, fysiologie, farmacokinetiek, farmacodynamiek en biologische reactie, mee te nemen.

Samenvatting

In hoofdstuk I wordt de wetenschappelijke literatuur doorgenomen op reeds voorgestelde werkingsmechanismen van EDCs die de interacties van chemicaliën met moleculaire sensoren, enzymen, eiwitten, regulatie van genexpressie, en epigenetica bevatten die op het biologische systeem aangrijpen, tijdens en na de blootstellingsperiode. Dit hoofdstuk onderzoekt ook de normale, endogene paden die de relevante hormonen betreffen, omdat kennisname hiervan het begrip van de fysiologische werking van de overeenkomstige EDCs zou kunnen bevorderen. Dan groepeerde het hoofdstuk de EDCs op basis van de organen waarop ze aangrijpen, de hormonen waarvan ze de werking verstoren, de aangrijpingspunten van die hormonen, en de daaruit volgende schadelijke effecten (reacties). Tenslotte wordt een ordeningstrategie voorgesteld die gebaseerd is op overeenkomstige schadelijke effecten. Dit hoofdstuk bespreekt vele complicaties die de kwantitatieve risicoanalyse vergezellen, zoals meervoudige mechanismen, vertraagde reacties (tijdsverschil tussen blootstelling en ongewenste effecten), dynamische interacties die lopen via kruisverbanden en gemeenschappelijke mechanismen (complexe mechanismen), en effecten die over generaties heen reiken. Tenslotte wordt een integratieve risicoanalyse voorgesteld die het exposoom, de inwendige blootstelling, en de biologische effecten verbindt aan de schadelijke effecten. Deze benadering maakt gebruik van een PBPK model, van een PD (farmacodynamisch) model en van het aaneenschakelen van deze twee modellen.

Hoofdstuk II bevat de ontwikkeling en validering van een PBPK model in een volwassene, voor di-2-ethylhexyl ftalaat (DEHP) and flutamide, beiden thuishorend in de categorie EDC. Het DEHP model bevat vier afbraakproducten van DHEP, te weten mono-(2-ethylhexyl) ftalaat (MEHP), 5-OH MEHP, 2-ethyl-5-carboxypentyl ftalaat (5-cx MEPP) and 5-oxo MEHP. Een in-vitro naar in-vivo extrapolatie (IVIVE) methode wordt er met succes bij gebruikt om in vivo kinetiek af te leiden uit in vitro studies onder gebruikmaking van de van toepassing zijnde biologische schalen. Een plaatselijke parametergevoeligheidsanalyse wordt uitgevoerd door middel van Monte Carlo simulaties van de onzekerheden in het model. Vervolgens werd het model geëvalueerd ten opzichte van gepubliceerde onafhankelijke gegevens betreffende plasma en urine concentraties van afbraakproducten van DEHP, en dit voor verscheidene doseringsscenario's.

De ontwikkeling van het flutamide PBPK model omvat extrapolatiebenaderingen van onder af, van boven af, alsook vanuit het midden. Eerst wordt het model ontwikkeld voor de rat om vervolgens geëxtrapoleerd te worden naar de mens. Waar het beoordeeld wordt aan de hand van experimenteel waargenomen gegevens aangaande 7 compartimenten, voldoet het rattemodel redelijk: voor de meeste weefsels wijken de door het model voorspelde middenwaardes minder dan een factor 10 af van het experimentele gemiddelde. Resultaten van de extrapolatie van het model naar het voorspellen van flutamide kinetiek in mens voor twee doseerscenarios (enkel- en meervoudig) bleken ook goed in overeenstemming met de experimentele waarnemingen.

Samenvatting

Hoofdstuk III legt de nadruk op de ontwikkeling van een zangerschaps PBPK (P-PBPK) model voor bis-fenol A (BPA) dat de foetus als een subcompartiment beschouwt in de modelstructuur. Eerst wordt het volwassen PBPK model ontwikkeld en gevalideerd aan de hand van menselijke toxicokinetische gegevens over BPA. Dit gevalideerde menselijke PBPK model wordt dan uitgebreid tot een P-PBPK model dat de fysiologische veranderingen accomodeert die optreden tijdens de zwangerschap alsmede het submodel van de foetus. Het hierbij ontwikkelde P-PBPK model blijkt in overeenstemming te zijn met biologische waarnemingen en laat zien dat na blootstelling van de moeder aan BPA deze stof gemakkelijk overgaat naar foetaal bloed en amnionvloeistof. De-conjugatie van het BPAconjugaat in placenta en foetus leidt tot verhoogde blootstelling aan BPA gedurende het foetale leven. Het is van belang dat vrij BPA in het foetale compartiment meer in steady state is en blijft, ook als het maternale BPA niveau daalt. De periode halverwege de zwangerschap wordt kritiek bevonden, omdat in deze tijd de concentratie van BPA in de foetus relatief hoog is. Bovendien wordt deze periode beschouwd als kritiek voor de ontwikkeling van het foetale lichaam.

Hoofdstuk IV bouwt een simulatie van het gedrag van een in silico kopie van het biologische systeem. Het reconstrueert in wiskundige vergelijkingen de biochemische informatie aangaande de communicatie tussen componenten. Het neemt de ontwikkeling en validering van een systeembioologisch model van ROS (reactieve zuurstofsubstanties) in beschouwing. Eerst bouwen we de modellen ab initio, beginnend bij de fysiologie van het reageren op oxidatieve verstoring. Vervolgens verhogen we stap voor stap de complexiteit van het netwerk. Door in een dominobenadering elk nieuw complexiteitsniveau toe te voegen kunnen we beginselen bepalen van hoe het systeem omgaat met ROS. Dit laat zien dat zowel mitochondrieel herstel als mitofagie ROS-geïnduceerde celdood kunnen afwenden. Het model wordt gevalideerd aan de hand van verscheidene groepen van in vitro gegevens.

Hoofdstuk V bevat de integratieve systeemtoxicologie aanpak. Het neemt twee gevallen in beschouwing:

- 1) Aan PBPK gekoppelde PD met een mechanistisch padenmodel (vergelijkbaar met AOP). Perfluoro octaan sulfonzuur (PFOS) wordt als voorbeeld genomen om de manieren waarop systeembioologisch modelleren ingebouwd wordt in het toxicologieveld via een aan farmacodynamiek gekoppeld weefseldosimetriemodel (PBPK/PD) uit te werken. Een PBPK model en een mechanistisch systeempad model worden elk op zich gesimuleerd om de deelmodellen te maken. Vervolgens wordt het aan het geïntegreerde PBPK/PD gekoppelde mechanistische model gebruikt voor simulaties. QIVIVE (Quantitatieve in-vitro naar in-vivo extrapolatie) tezamen met PBPK wordt gebruikt om de prestaties van het model te kwalificeren aan de hand van in vitro gegevens.
- 2) Aan PBPK gekoppelde PD met het gedetailleerde ROS systeembioologie model in een voorbeeldstudie van flutamide. Het eerder (in Hoofdstuk II) ontwikkelde

Samenvatting

flutamide PBPK model en ROS systeembio-logiemodellen worden hier gehanteerd bij de ontwikkeling van integratieve systeemtoxicologie. Het resulterende integrale model wordt gebruikt om de levertoxiciteit van flutamide te voorspellen, daarmee de bredere toepasbaarheid van integratieve systeemtoxicologie bij de beoordeling van risico's voor de menselijke gezondheid illustrerend.